



## **AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO LEITE DE BÚFALAS SOB DIFERENTES PRÁTICAS HIGIÊNICAS**



Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária – MAARA  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA  
Centro de Pesquisa Agroflorestral da Amazônia Oriental – CPATU  
Belém, PA

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente da República

Itamar Augusto Cautiero Franco

MINISTRO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA

Sinval Guazzelli

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA

Presidente

Murilo Xavier Flores

Diretores

José Roberto Rodrigues Peres  
Márcio de Miranda Santos  
Elza Ângela Battaggia Brito da Cunha

Chefia do CPATU

Dilson Augusto Capucho Frazão – Chefe  
Emanuel Adilson Souza Serrão – Chefe Adjunto Técnico  
Luiz Octávio Danin de Moura Carvalho – Chefe Adjunto de Apoio

## **AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO LEITE DE BÚFALAS SOB DIFERENTES PRÁTICAS HIGIÊNICAS**

Luiz Carlos Vieira  
José de Brito Lourenço Junior  
Sebastião Hühn  
Heriberto Antonio Marques Batista  
Antonio Kotaro Hantani



Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária – MAARA  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA  
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental – CPATU  
Belém, PA

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

EMBRAPA-CPATU

Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n

Telefones: (091) 226-6612, 226-6622

Telex: (091) 1210

Fax: (091) 226-9845

Caixa Postal, 48

66095-100 – Belém, PA

Tiragem: 500 exemplares

#### **Comitê de Publicações**

Antônio Agostinho Müller

Célia Maria Lopes Pereira

Damásio Coutinho Filho

Emanuel Adilson Souza Serrão

Emmanuel de Souza Cruz – Presidente

João Olegário Pereira de Carvalho

Maria de Lourdes Reis Duarte – Vice-Presidente

Maria de Nazaré Magalhães dos Santos – Secretária Executiva

Raimundo Freire de Oliveira

Saturnino Dutra

Sérgio de Mello Alves

#### **Revisores Técnicos**

Claudio C. Ribeiro – UFPA

José de Arimatéia Freitas – FCAP

Otacílio Lopes Vargas – Instituto de Laticínios Cândido Tostes

#### **Expediente**

Coordenação Editorial: Emmanuel de Souza Cruz

Normalização: Célia Maria Lopes Pereira

Revisão Gramatical: Maria de Nazaré Magalhães dos Santos  
Miguel Simão Neto (texto em inglês)

Composição: Euclides Pereira dos Santos Filho

VIEIRA, L.C.; LOURENÇO JUNIOR, J. de B.; HÜHN, S.; BATISTA, H.A.M.;  
HANTANI, A.K. **Avaliação microbiológica do leite de búfalas sob diferentes  
práticas higiênicas.** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1994. 38p. (EMBRAPA-  
-CPATU. Boletim de Pesquisa, 155)

1. Bubalino – Leite – Microorganismo. 2. Bubalino – Leite – Higiene. 3.  
Bubalino – Leite – Análise. I. Lourenço Junior, J. de B., colab. II. Hühn, S., colab.  
III. Batista, H.A.M., colab. IV. Hantani, A.K., colab. V. EMBRAPA. Centro de  
Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (Belém, PA). VI. Título. VII. Série.

CDD: 637.1277

© EMBRAPA – 1994

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>12</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>Contagem Total de Unidades Formadoras de Colônias (UFC)....</b>	<b>17</b>
<b>Tempo de Redução do Azul de Metileno (TRAM).....</b>	<b>28</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>36</b>

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Engenheiro-Agrônomo Saturnino Dutra, pela colaboração na análise estatística dos dados experimentais.

# AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO LEITE DE BÚFALAS SOB DIFERENTES PRÁTICAS HIGIÊNICAS

Luiz Carlos Vieira<sup>1</sup>  
José de Brito Lourenço Junior<sup>2</sup>  
Sebastião Hühn<sup>3</sup>  
Heriberto Antonio Marques Batista<sup>2</sup>  
Antonio Kotaro Hantani<sup>4</sup>

**RESUMO:** Foram coletadas amostras de leite de 16 fêmeas bubalinas da raça Mediterrâneo, de primeira e segunda parições, criadas em pastagem cultivada de quicuí-da-amazônia (*Brachiaria humidicola*), para avaliação da contagem total de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) e Tempo de Redução do Azul de Metileno (TRAM), no Campo Experimental "Senador Álvaro Adolpho", pertencente ao Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (CPATU), da EMBRAPA. Os tratamentos experimentais utilizados foram: I – animais sem higienização; II – animais com úberes lavados com água corrente no estábulo; III – animais banhados em lagoa artificial; e IV – animais banhados em lagoa artificial e úberes lavados com solução bactericida. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados de contagem total de UFC foram transformados pela equação  $Z = \log_{10}(y+0,5)$ . As médias de contagem total de UFC por ml de leite, para os tratamentos I, II, III e IV foram, respectivamente,  $673,68 \times 10^3$ ;  $253,24 \times 10^3$ ;  $388,68 \times 10^3$  e  $38,24 \times 10^3$ . Nas épocas seca e chuvosa esses valores foram  $153,93 \times 10^3$  e  $467,62 \times 10^3$  UFC/ml de leite, respectivamente. As médias do

<sup>1</sup>Eng.-Agr. EMBRAPA – CPATU. Caixa Postal 48. CEP 66017-970. Belém, PA.

<sup>2</sup>Eng -Agr. M.Sc. EMBRAPA – CPATU

<sup>3</sup>Quím.-Industr. M.Sc. EMBRAPA – CPATU.

<sup>4</sup>Eng.-Agr. Av. Pedro Álvares Cabral, 1859. Apt<sup>o</sup> 102 – D. CEP 66.113-190. Belém, PA.

TRAM, em minutos, para esses tratamentos foram 268,09; 348,53; 356,03 e 425,74, respectivamente. Nas épocas seca e chuvosa as médias foram de 404,46 e 311,19 minutos, na mesma ordem. As condições climáticas influenciaram na qualidade do leite de búfala, ocorrendo maior atividade microbiana na época chuvosa. A higienização do animal com banho e uso de bactericida no úbere, antes da ordenha, é o procedimento mais adequado para se obter um produto de melhor qualidade microbiológica.

Termos para indexação: búfalas, qualidade do leite, higiene do leite, microbiologia, reductase.

## MICROBIOLOGIC EVALUATION OF BUFFALOES MILK UNDER SOME HYGIENIC PRACTICES

**ABSTRACT** – Samples of 16 Mediterranean buffalo cows milk were collected to evaluate total Colony Unit Formers (CUF) and Reduction Time of Methylene Blue (RTMB). First and second calving cows grazing a *Brachiaria humidicola* pasture were used. The trial was carried out at the Agroforestry Research Center for the Eastern Amazon (CPATU) in Belém, PA, Brazil. The treatments were: I – animals without any hygienic care; II – animals having the udder washed with tap water; III – animals bathed in artificial lake; and IV – animals bathed in artificial lakes and later having the udder washed with a bactericide. The experimental design was completely randomized with four replications. CUF data were transformed by the equation  $z = \log_{10} (y + 0.5)$ . CUF/ml averages were, respectively,  $673.68 \times 10^3$ ;  $253.24 \times 10^3$ ;  $388.68 \times 10^3$  and  $38.24 \times 10^3$  for treatments I, II, III and IV. The averages CUF for rainy and dry periods of the year were, respectively,  $153.93 \times 10^3$  and  $467.62 \times 10^3$ . The TRAM averages (in minutes) were 268.09; 348.53; 356.03 and 425.74 for treatments I, II, III and IV, respectively. The TRAM averages for rainy and dry periods of the year were, respectively, 404.46 and 311.19. Climatic conditions affected milk quality, occurring greater microbiologic activity during rainy season. The hygienic practice of bathing and use of bactericide in the udder washing, before milking, is therefore recommended to obtain a better quality milk.

Index terms: water buffaloes, milk quality, hygiene, microbiology, reductase.



## INTRODUÇÃO

A qualidade do leite é um dos principais fatores para o sucesso da industrialização de laticínios. Trata-se de um produto que deve ser proveniente de rebanhos de comprovada sanidade, com boa alimentação e manejo, e de fazendas com instalações zootécnicas apropriadas, o que confere ao leite, a capacidade de conservação no transporte até à plataforma da usina de transformação (Vieira, 1975). Os cuidados higiênicos na obtenção do leite devem começar na fonte de produção, caso contrário, o produto apresenta qualidade inferior, mesmo que se dispensem posteriormente os melhores tratamentos (Behmer, 1950). O uso de matéria-prima de baixo padrão de qualidade resulta em derivados com curto período de prateleira, excessiva deterioração no transporte e pouca durabilidade ao nível de consumidor (Covarrubias et al. 1978).

Nas propriedades onde não existem medidas preventivas, pode haver contaminação na ordenha do leite, devido à infecção do próprio animal, ou por influência do meio exterior, iniciando-se através do ordenhador, que às vezes é portador assintomático de determinadas doenças, veiculando microorganismos ao produto. Esse processo também pode ocorrer nas outras etapas da manipulação do leite e dos derivados, até que sejam oferecidos ao consumo (Gomes, 1975).

Durante a ordenha, partículas sujas aderentes ao pêlo do animal se soltam e podem contaminar o leite. Estas partículas podem ser de esterco, terra, células epiteliais, pêlos, etc. e carregam microorganismos que são imediatamente dispersos no leite (Moraes & Handerwurcel, 1982). Segundo Rocha (1980), os primeiros jatos de leite na ordenha são os mais contaminados e, portanto, devem ser coletados 50 ml de cada teta, para teste de detecção de manites, a fim de separar do rebanho, os animais que apresentam no leite a formação de grumos ou coágulos.

Por outro lado, sabe-se que o leite possui uma reduzida flora microbiana ao ser retirado do úbere sadio e limpo, com um número de bactérias variando de 500 a 10.000 por mililitro. Porém, considerando que os microorganismos não atuam durante as três primeiras horas após a ordenha, pois há fatores inibidores de bactérias - as lacteninas, Santos (1981) cita que, o leite, após a ordenha, pode ser transportado dentro de três horas até à indústria, sem acidificar.

A produção leiteira com práticas higiênicas inadequadas redundam em prejuízo econômico para o produtor, uma vez que os surtos de doenças atribuídas ao leite e derivados provocam a diminuição da procura. Quando contém sujeiras, ocorrem fermentações paralelas indesejáveis, por microorganismos, que alteram o sabor e o pH, dificultando a comercialização do produto e dos derivados, sendo o produtor obrigado a reduzir consideravelmente o preço de venda, em razão da qualidade inferior (Hodgson, 1961).

O órgão que fiscaliza e inspeciona os laticínios no Brasil, que é a Secretaria de Inspeção de Produto Animal-SIPA, estabelece, dentre outras normas, algumas práticas higiênicas na fonte de produção, a fim de reduzir a carga bacteriana do leite durante a ordenha, transporte e horário de chegada do leite à plataforma de recepção (Brasil, 1978). A qualidade higiênica do leite depende de vários aspectos, tais como estado sanitário do rebanho, habilidade do ordenhador, limpeza dos equipamentos e de todas as superfícies que entram em contato com o produto. Hühn et al. (1980) relatam que as condições sob as quais o leite é produzido, estocado na fazenda e transportado para a usina de beneficiamento afetam diretamente a qualidade higiênica de produtos derivados, sendo praticamente impossível melhorar as propriedades se o número inicial de microorganismos presentes no leite "in natura" for elevado.

A Amazônia possui o maior efetivo de bubalinos do Brasil, e, segundo estimativas, supera um milhão de animais. Nos últimos anos vem aumentando o interesse na transformação do leite de búfalas em produtos derivados, devido ao elevado rendimento dos produtos industrializados. No Centro de Pesquisa Agroflorestral da Amazônia Oriental - CPATU, vêm sendo desenvolvidas tecnologias para o aproveitamento do leite de búfalas produzido em fazendas distantes dos grandes mercados consumidores, como é o caso do arquipélago do Marajó, que produz leite com acidez elevada, perda de matéria-prima e baixa qualidade dos produtos derivados (Hühn et al. 1991).

O pagamento do leite mediante um diferencial acrescido ao preço, para contemplar o melhor padrão de qualidade microbiológica e físico-química é prática adotada em inúmeros países (Denis, 1970; Petersen & Jorgensen, 1970). Como consequência dessa prática, na Dinamarca, foi verificada a rápida melhoria de 2% na qualidade higiênico-

-sanitária do leite, permitindo pagar ao produtor, o estímulo de 15% acima do preço médio do leite (Petersen & Jorgensen, 1970).

Na região amazônica, 90% dos meios de transporte ocorrem através de hidrovias. A zona do Marajó e ilhas possuem 157 km de rodovias, dos quais apenas 28,3 km são estradas permanentes. Tornam-se, dessa maneira, muito morosos o transporte e a distribuição do leite desde a fonte de produção até o local da venda do produto "in natura", ocasionando perdas devido à fácil acidificação (Instituto..., 1971).

O "habitat" preferido pelos búfalos é a pastagem na vizinhança de matas, represas, rios e terrenos pantanosos, sendo que a água é quase tão indispensável a estes animais como a certos anfíbios. Vale ressaltar também que os búfalos não só bebem água com grande frequência, como também se banham, eliminando o excesso de calor corporal, e se defendem dos insetos e parasitas que os perseguem. Demoram muito tempo banhando-se e revolvendo-se no lodo. Nas áreas de terra firme, quando não existe água às proximidades, esses animais fazem pequenas escavações na pastagem, que posteriormente servem como reservatórios de água das chuvas, que chegam a transformarem-se em lamaçais. Este hábito dos búfalos pode ocasionar a ocorrência de muitas sujidades na obtenção do leite, quando o animal não é convenientemente higienizado.

No mundo, uma das principais utilizações econômicas do gado bubalino é a produção leiteira. Assim, de 50% a 70% do leite produzido na Índia é de búfala. No Brasil, os exemplares desta espécie são considerados excelentes produtores de leite quando produzem acima de 2.000 kg por lactação. Na EMBRAPA-CPATU foi registrado o recorde desta espécie, com produção de 4.645 kg em uma lactação.

Vários autores citam que o leite de búfala tem sido aproveitado para a fabricação de produtos derivados, tais como doce de leite, iogurte e queijo, com rendimentos superiores ao leite bovino (Hühn et al. 1981; Hühn et al. 1984; Hühn et al. 1991). O "ghee", uma espécie de manteiga líquida, transformada em óleo, e o "khowa", que é uma espécie de leite desidratado, são usados na Índia, devido a dificuldades de conservação do leite fresco (Santiago, 1956).

De acordo com a classificação de Bahlerao (1977), o leite de búfala é considerado como muito bom, bom, regular e ruim, se o Tempo de Redução do Azul de Metileno (TRAM) for superior ou igual

a cinco horas, entre três e quatro horas, de uma a duas horas e menor que uma hora, respectivamente. A contagem total de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) deve ser menor que 200 mil, de 200 mil a 1 milhão, de 1 a 5 milhões e maior que 5 milhões, na mesma ordem.

Conforme a legislação brasileira, o leite de vaca bovina é classificado nos tipos A, B e C. Os dois primeiros devem possuir, respectivamente, ao nível de produtor, no máximo, de 10 mil e 500 mil UFC/ml de leite, enquanto que para o tipo C, ainda não há padrão (Barros, 1990). O TRAM, de acordo com essa legislação, é de 5 horas, para o tipo A, 3 horas e 30 minutos para o tipo B; e de 2 horas e 30 minutos para o tipo C (Xavier, 1992).

Assim, há necessidade de se obterem informações sobre as melhores condições higiênicas de produção do leite de búfalas na fonte, que representam um fator de grande importância para maior conservação do produto "in natura", bem como para a fabricação de produtos derivados.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição Animal "Senador Álvaro Adolpho", pertencente ao Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental - CPATU, da EMBRAPA, em Belém, Pará. O tipo climático que ocorre no local onde o leite foi produzido é o Afi, segundo Köppen, caracterizado por chuvas abundantes durante o ano inteiro, com um período mais chuvoso (dezembro a maio) e outro menos chuvoso (junho a novembro) tendo uma precipitação pluvial média de 2.761 mm por ano. A temperatura média anual do ar é de 25,9 °C. A umidade relativa do ar média é de 86% e a insolação é de 2.389 horas/ano em média (Bastos, 1972). Na Fig. 1 são apresentadas as condições climáticas da área experimental.

Foram selecionadas 16 fêmeas bubalinas lactantes, da raça Mediterrâneo, de primeira e segunda lactações, criadas em pastagem cultivada de quicuí-da-amazônia (*Brachiaria humidicola*) em pastejo rotacionado, com sete dias de ocupação e 42 dias de descanso, sob a taxa de lotação de 2 Unidades Animais (U.A)/ha/ano (Fig. 2). Os animais receberam suplementação alimentar, balanceada em energia e

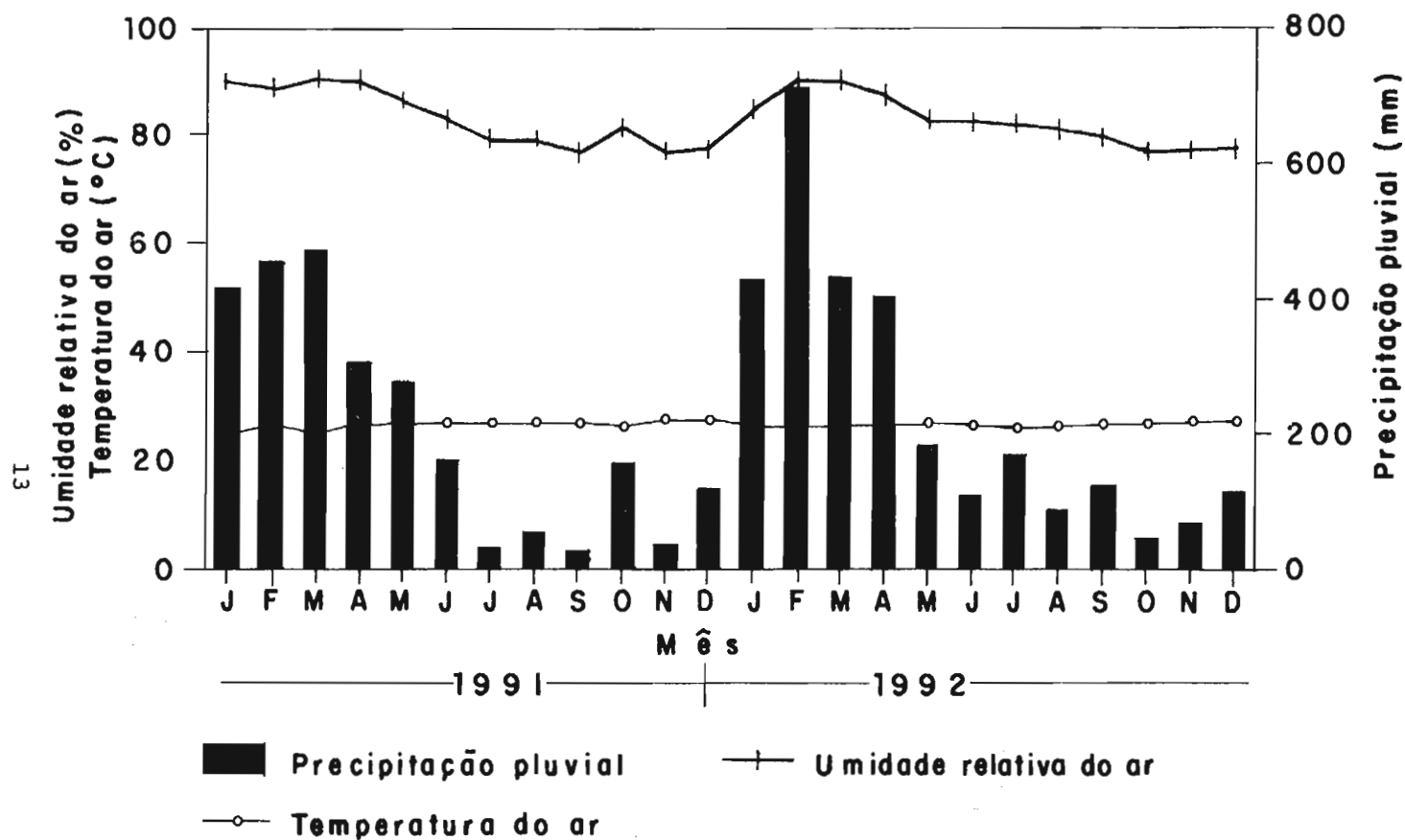


FIG. 1. Condições climáticas da área experimental, Belém, Pará.

proteína, contendo 76% de Nutrientes Digestíveis Totais (NDT); 20% de Proteína Bruta (PB); 0,58% de Cálcio (Ca); e 0,44% de Fósforo (P), por ocasião das ordenhas matinal e vespertina, na proporção de 1 kg de ração por 3 kg de leite produzido, além de suplementação mineral. As ordenhas foram efetuadas sem a interferência de bezerros que tiveram acesso às tetas das vacas somente após essa operação (Fig. 3).

Foram utilizadas pastagens cultivadas em área de terra firme onde existiam pequenas poças de lama, principalmente na época mais chuvosa, formadas pelas fêmeas bubalinas experimentais (Fig. 4).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram os seguintes:

- I - animais sem higienização;
- II - animais com úberes lavados em água corrente no estábulo;
- III - animais banhados em lagoa artificial; e
- IV - animais banhados em lagoa artificial e úberes lavados com solução bactericida.

Na condução deste experimento foi usada uma lagoa artificial existente às proximidades do estábulo, de cerca de 2 ha de espelho d'água, para o banho das fêmeas bubalinas dos Tratamentos III e IV, antes das ordenhas matinal e vespertina (Fig. 5).

Para a coleta do material a ser submetido às análises microbiológicas, efetuadas no período de 01.10.91 a 12.05.92, por ocasião da ordenha matinal, foram usados recipientes de vidro resistente a aquecimento e de boca larga com capacidade para 500 ml e tampas rosqueadas, esterilizados à temperatura de 160°C durante 2h (American..., 1941).

As amostras foram analisadas três horas após a coleta do material para simular o tempo gasto, em média, com o transporte da fonte produtora até às plataformas de recepção das indústrias de laticínios (Santos, 1981; Hühn et al. 1980).

A contagem do total das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foi efetuada com o uso do meio de cultura "agar padrão", com a



FIG. 2. Búfalas lactantes em área de pastagem cultivada de quicuí-da-amazônia (*Brachiaria humidicola*), na terra firme.



FIG. 3. Ordenha de búfala experimental alimentada com ração balanceada, sem a interferência de bezerro.



FIG. 4. Pastagem cultivada de quicuí-da-amazônia (*Brachiaria humidicola*), em terra firme, com pequena poça de lama formada pelas búfalas experimentais.



FIG. 5. Lagoa artificial utilizada para banho das fêmeas bubalinas, antes da ordenha.



seguinte composição: 5g tryptona agar, 2,5g de extrato de leveduras, 1g de glucose, 15g de agar e 1.000 ml de água destilada, com o pH do meio ajustado para 7 (Vieira, 1975). O meio de cultura, na quantidade de 12 ml, foi esterilizado em tubos de ensaio a 121°C, durante 15 minutos. Após as diluições necessárias e usando-se água tamponada, as amostras nas alíquotas de 0,1 e 1,0 ml foram transferidas para placas de Petri, devidamente etiquetadas, de acordo com os tratamentos, e procedendo-se a semeadura em agar padrão e a incubação em estufa a 32°C, por 48 horas (Vieira, 1975; Bhemer, 1950).

A prova da redutase, para determinação do TRAM, foi efetuada na concentração de 1:200.000 (azul de metileno:leite), de acordo com técnicas descritas por Behmer (1975). Foram utilizados tubos de ensaio, e feita a incubação à temperatura de 37°C, até a completa descoloração, visando-se determinar a atividade microbiana existente no leite, com base no tempo de redução. O procedimento para essa prova seguiu as normas da American... (1941), que classifica o leite em: Excelente (não descolorido em 8 h); Bom (descolorido entre 6 e 8 h); Regular (descolorido entre 2 e 6 h) e Ruim (descolorido em menos de 2 h).

Os dados da contagem do total de UFC foram transformados pela equação  $Z = \log_{10} (Y+0,5)$ , para ajuste da grande variação existente nas contagens que oscilaram de zero a pouco mais de  $4 \times 10^6$ . Esses dados e os de TRAM foram analisados estatisticamente, sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 0,05.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Contagem Total de Unidades Formadoras de Colônias (UFC)**

Os dados referentes à contagem do total de UFC constatados no leite de búfalas, sob diferentes práticas higiênicas, em dois períodos do ano, nos tratamentos experimentais, são apresentados na Tabela 1.

A análise dos dados mostra que houve efeito significativo nos diferentes procedimentos de higienização efetuados nas fêmeas bubalinas, com vistas à melhoria da qualidade do leite.

**TABELA 1.** Dados referentes à contagem do total de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), em leite de búfalas sob diferentes práticas higiênicas, nas épocas mais e menos chuvosa, no período de 01.10.91 a 12.05.92, Belém, Pará.

Tratamento	Época do ano					
	Menos chuvosa		Mais chuvosa		Média	
	Y*	Z	Y*	Z	Y*	Z
I - Animais sem higienização	456,07	2,22a	826,00	2,70a	673,68	2,50a
II - Animais com úberes lavados em água corrente	65,36	1,37b	384,75	2,38a	253,24	1,96b
III - Animais banhados em lagoa artificial	73,36	1,30b	609,25	2,41a	388,68	1,95b
IV - Animais banhados em lagoa artificial e úberes lavados com solução bactericida	20,71	0,66c	50,50	1,20b	38,24	0,98c
Média	153,93	1,39B	467,62	2,17A	—	—

Y = Dados originais; Z = Dados transformados [ $Z = \log 10(Y+0,5)$ ].

\* Em 1.000 UFC/ml de leite.

Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 0,05.

Foi observado que no Tratamento I, o número de microorganismos ( $673,68 \times 10^3$  UFC/ml) foi bastante elevado em relação aos Tratamentos II e III, que se mostraram significativamente semelhantes ( $253,24 \times 10^3$  e  $388,68 \times 10^3$  UFC/ml). Estes suplantaram estatisticamente, em número de UFC/ml, o Tratamento IV, cujo leite apresentava melhor qualidade higiênica, considerado como muito bom, por evidenciar menos de  $200 \times 10^3$  UFC/ml de leite (Tabela 1).

Essa ligeira elevação no total da contagem de microorganismos nos Tratamentos I, II e III foi devido às condições de permanência dos animais na pastagem, chafurdando-se em poças de lama, principalmente, nas horas mais quentes do dia (Fig. 6), ou banhando-se na lagoa artificial (Fig. 5), cuja água continha detritos carregados pelas chuvas e oriundos das instalações zootécnicas (currais, estábulos, baias, etc), pastagens e mesmo de outras áreas localizadas em nível superior. No Tratamento IV, mesmo com os animais banhando-se nessa lagoa, o uso do bactericida reduziu substancialmente a carga bacteriana do leite "in natura" (Fig. 7).

Foi constatada diferença significativa entre os períodos do ano, ocorrendo na época chuvosa (dezembro a maio) a maior quantidade de microorganismos, conforme é ilustrado na Fig. 8. Nas Figs. 9, 10 e 11, onde são comparados os dados dos diferentes tratamentos com a umidade relativa do ar, a precipitação pluvial e a temperatura, observa-se a tendência de elevação do total de UFC de bactérias no leite "in natura", com o aumento dos valores dessas variáveis climáticas.

Na época menos chuvosa do ano (junho a novembro), no Tratamento I, em que as fêmeas não receberam higienização antes da ordenha, observou-se a maior incidência de UFC ( $456,07 \times 10^3/\text{ml}$ ), superior estatisticamente às verificadas nos demais tratamentos. Nos tratamentos II e III, os valores dessa incidência foram semelhantes,  $65,36 \times 10^3$  e  $73,36 \times 10^3$  de UFC/ml, respectivamente. A menor quantidade de microorganismos ( $20,71 \times 10^3$  UFC/ml) ocorreu no Tratamento IV, ou seja, naquele em que os úberes dos animais foram lavados com solução bactericida, antes da ordenha, além do banho na lagoa artificial.

Nessa época, a carga de microorganismos foi menor, principalmente, considerando-se a prática higiênica adotada no Tratamento III, no qual os animais foram banhados na lagoa, que recebeu reduzido carregamento de sujidades através das águas das chuvas ocorrentes com menor intensidade no tipo climático da área experimental. No Tratamento I, animais sem higienização, a causa da maior quantidade de bactérias no leite "in natura" foi resultante das poças de lama existentes na pastagem e formadas pelas águas pluviais, urina e fezes dos animais, que conferiram ao ambiente uma fonte permanente de bactérias. O Tra-



FIG. 6. Fêmeas experimentais chafurdando-se em poça de lama.



FIG. 7. Fêmea experimental sendo higienizada com solução bactericida, antes da ordenha.

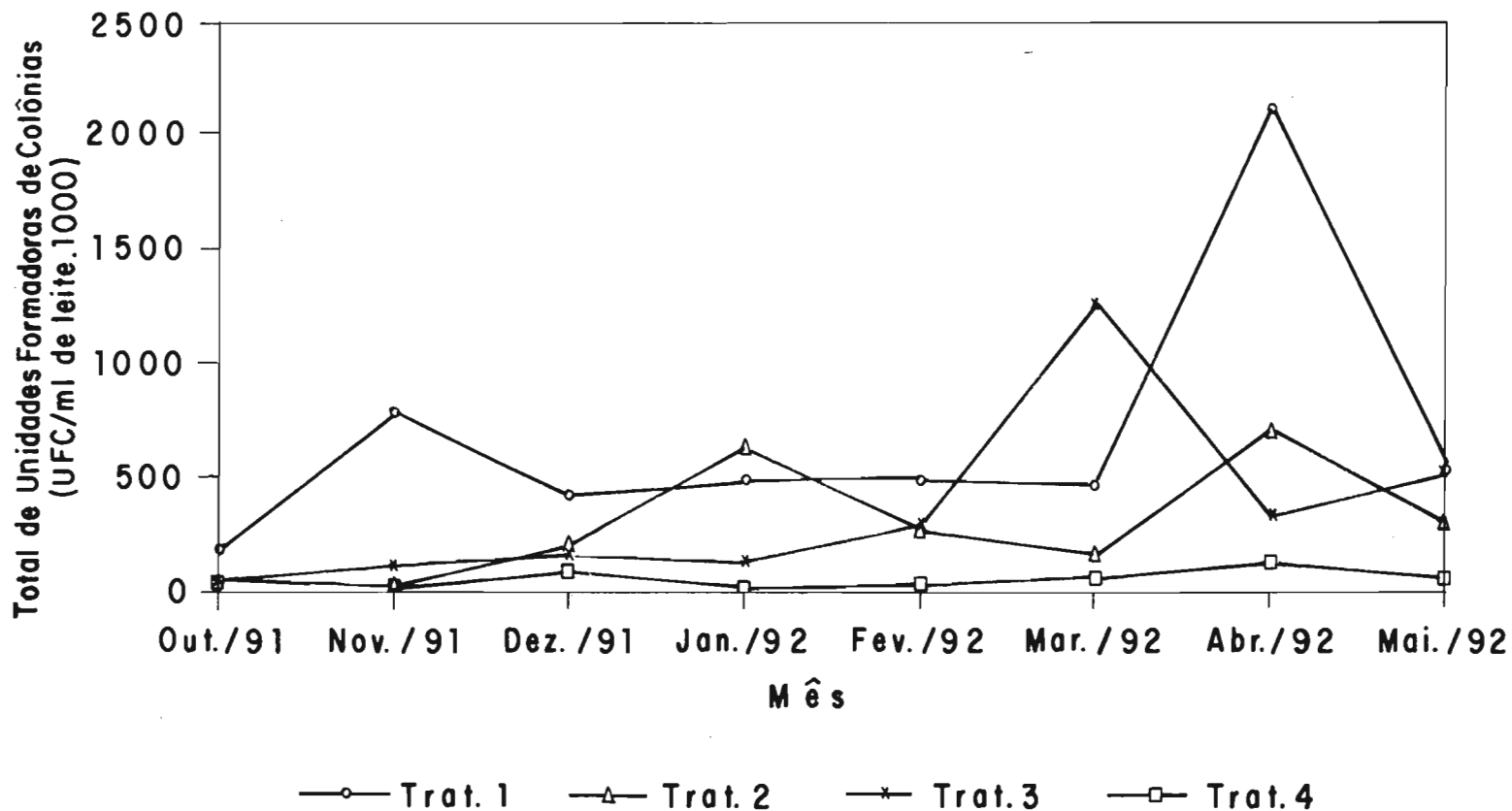


FIG. 8. Total de Unidades Formadoras de Colônias no leite "in natura", por mês, no período de outubro/91 a maio/92.

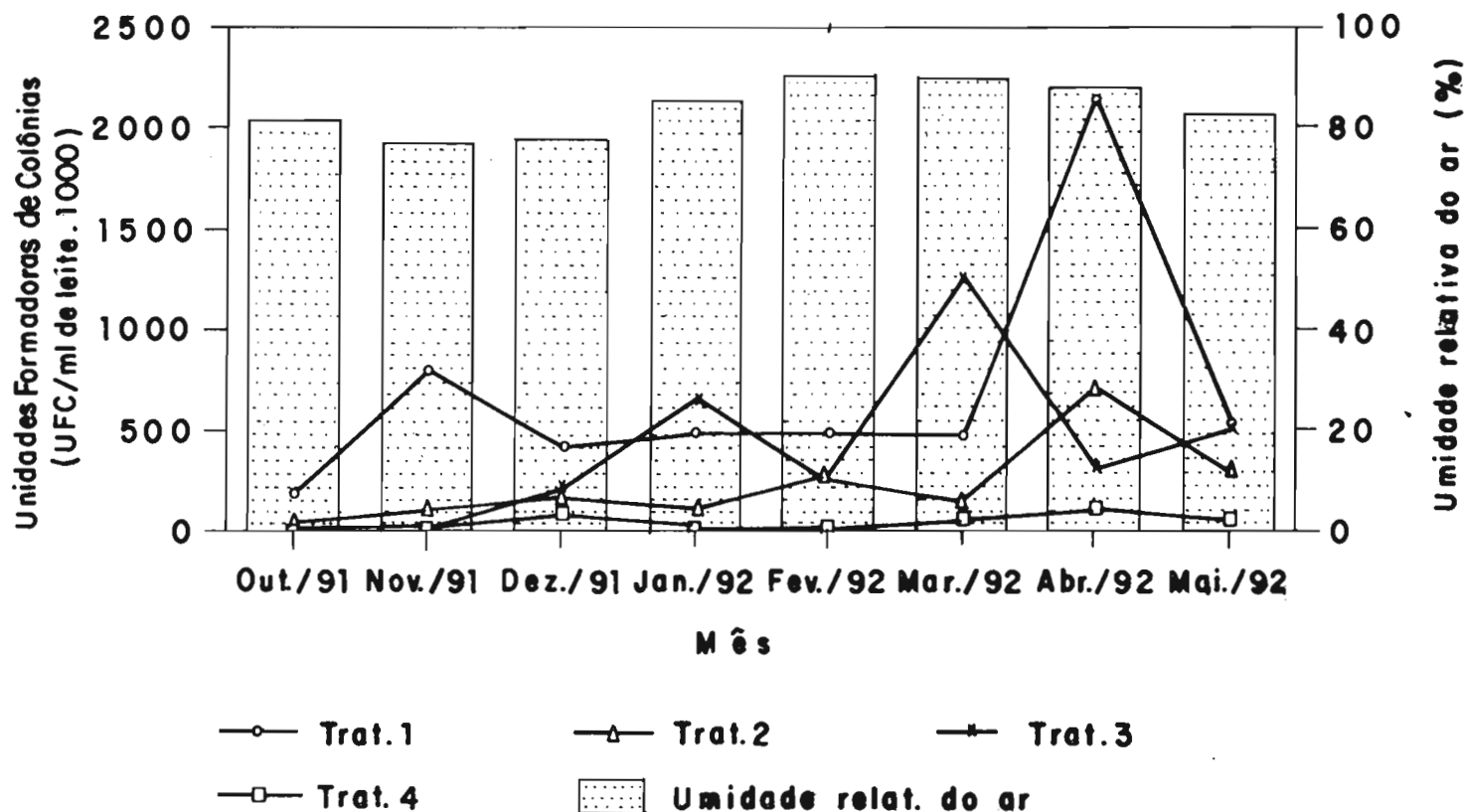


FIG. 9. Comparação entre a umidade relativa do ar e o total de Unidades Formadoras de Colônias no leite "in natura", por mês, no período de outubro/91 a maio/92.

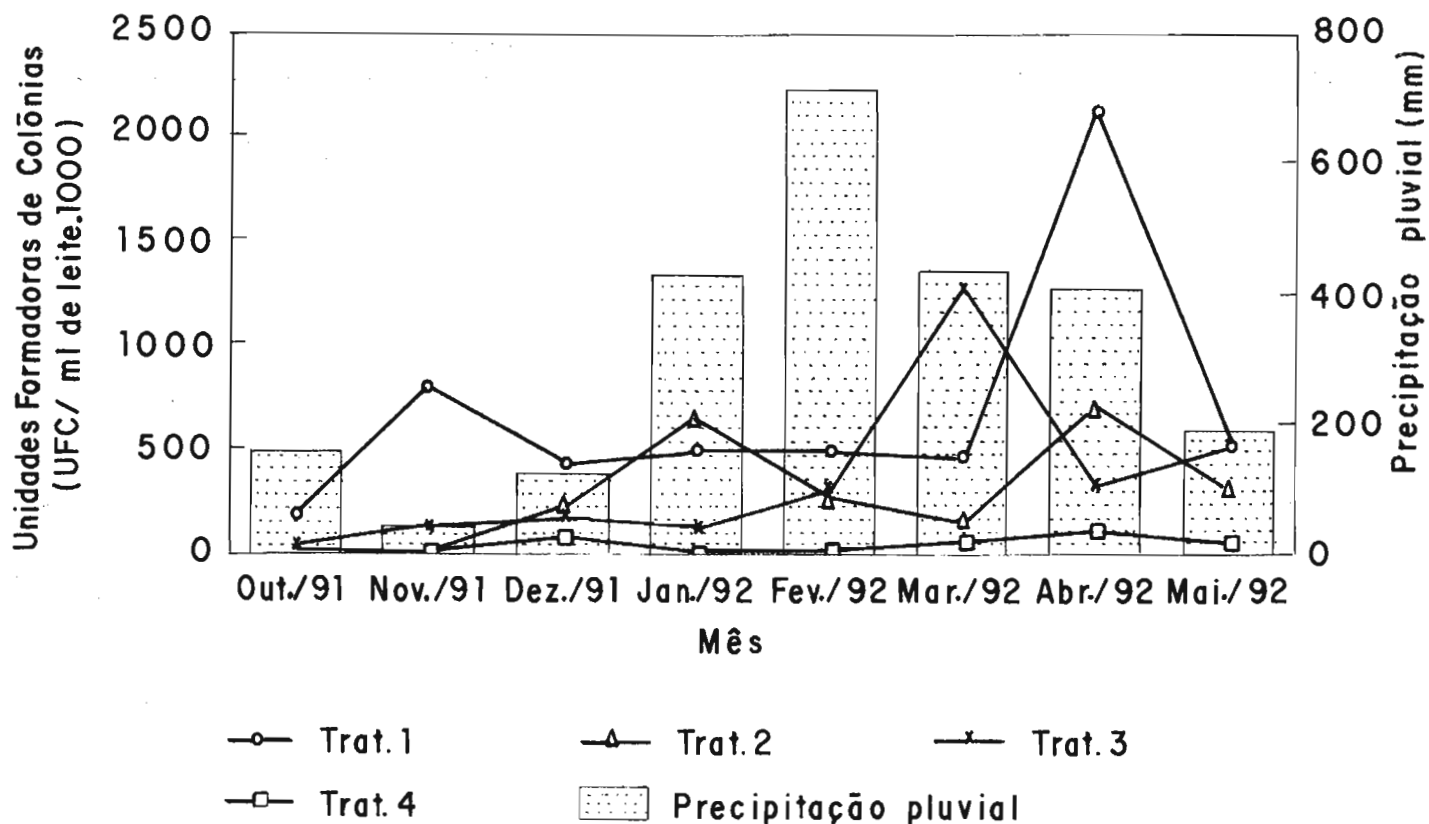


FIG. 10. Comparação entre a precipitação pluvial e o total de Unidades Formadoras de Colônias no leite "in natura", por mês, no período de outubro/91 a maio/92.

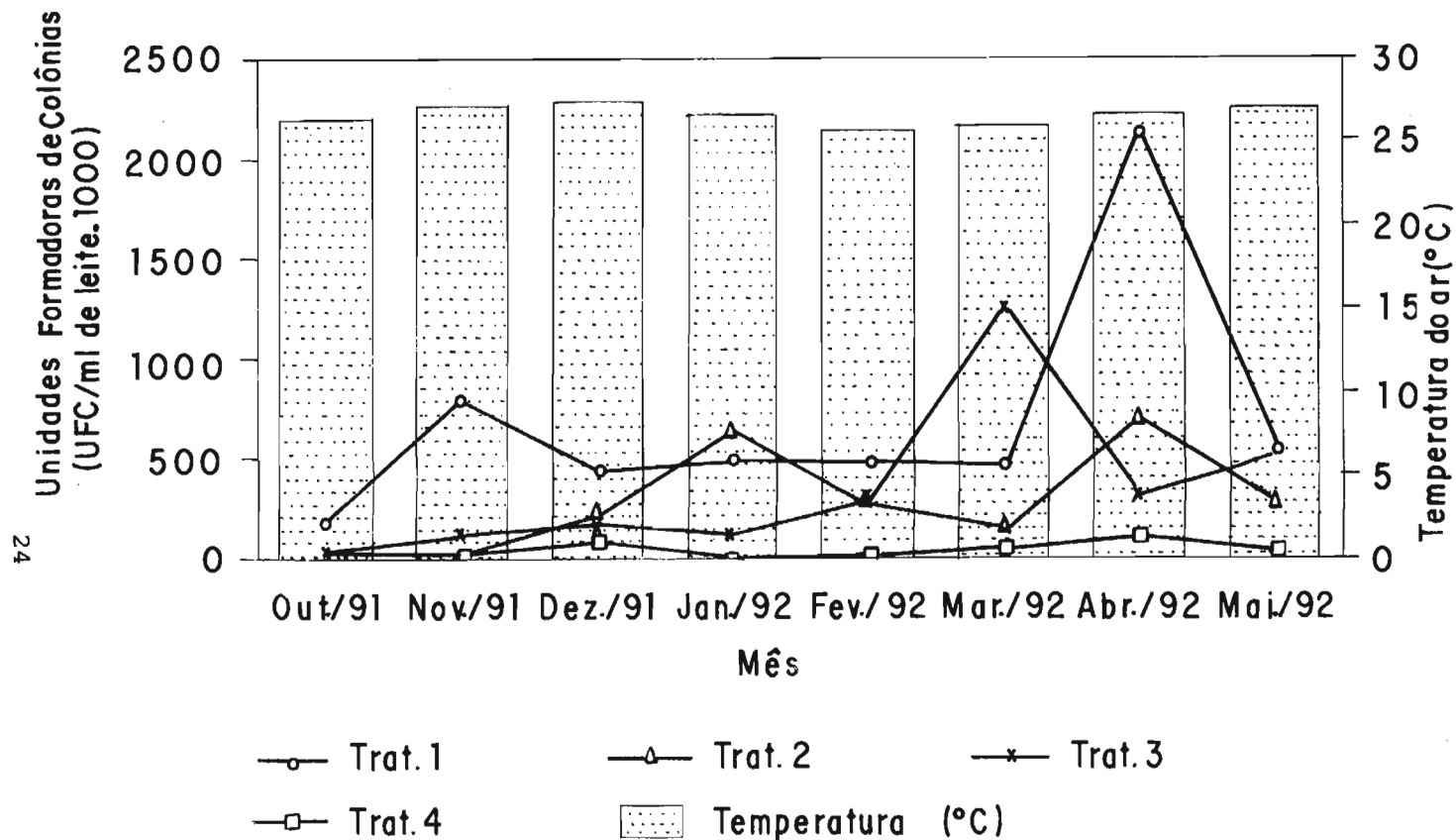


FIG. 11. Comparação entre a temperatura do ar e o total de Unidades Formadoras de Colônias no leite "in natura", por mês, no período de outubro/91 a maio/92.



tamento II, com lavagem dos úberes em água corrente (Fig. 12) também apresentou efeito desejável na redução da carga bacteriana, sendo suplantado em eficiência pelo Tratamento IV, por razões óbvias.

Apesar do leite produzido sem higienização, Tratamento I, ter apresentado maior quantidade de microorganismos, entre  $200 \times 10^3$  e  $1.000 \times 10^3$  UFC/ml, foi considerado como um "Bom" produto. O leite produzido nos Tratamentos II, III e IV foi avaliado como "Muito Bom", uma vez que evidenciou menos de  $200 \times 10^3$  UFC/ml, conforme a classificação para o leite de vacas bubalinas (Bhalerao, 1977). De acordo com a legislação brasileira para leite bovino, os leites obtidos nos quatro tratamentos poderiam ser enquadrados como matéria-prima para o beneficiamento de leite do tipo B, apesar do obtido no Tratamento I, sem higienização (Fig. 13), ter apresentado valor próximo do limite para ser considerado como matéria-prima para o beneficiamento do leite do tipo C.

No período chuvoso do ano (dezembro a maio), houve semelhança entre os Tratamentos I, II e III, que produziram leite com quantidade significativamente maior de microorganismos,  $826,00 \times 10^3$ ,  $384,75 \times 10^3$  e  $609,25 \times 10^3$  UFC/ml, respectivamente, em relação ao Tratamento IV, no qual foi utilizada solução bactericida ( $50,50 \times 10^3$  UFC/ml).

Devido à grande incidência de chuvas, foram observados aumentos na quantidade de bactérias, principalmente nos Tratamentos I e III. Este efeito ocorreu logo após o início do período mais chuvoso, ocasião em que são carregadas sujidades para a lagoa e ocorre a formação de poças de lama nos pastos. Em seguida, essa quantidade de bactérias decresceu com a diminuição das chuvas, conforme pode ser observado na Fig. 10.

Nos animais do Tratamento II, com úberes higienizados apenas com a lavagem em água corrente, também foi observada uma quantidade de microorganismos, um pouco elevada, constatação que se atribui aos animais chegarem ao estábulo com o corpo coberto por lama, os quais podem contaminar o leite, apesar da higienização. No Tratamento IV este fato não ocorreu, constituindo-se no mais eficiente método para melhorar a qualidade higiênica do leite na fonte de produção.



FIG. 12. Fêmea experimental sendo higienizada com água corrente, antes da ordenha.



FIG. 13. Fêmeas experimentais com sujidades das poças de lama.

Nos Tratamentos I, II e III, o leite resultante ainda se enquadrou no padrão de leite "Bom". O resultante do Tratamento IV, foi considerado como "Muito Bom" (Bhalerao, 1977). Entretanto, o leite de vacas bubalinas proveniente dos Tratamentos I (sem higienização) e III (com banho na lagoa artificial), considerando-se a legislação brasileira para o leite de vacas bovinas, pode ser utilizado como matéria-prima para a obtenção de leite do tipo C. O leite resultante dos Tratamentos II (com úberes lavados em água corrente) e IV (com utilização de solução bactericida) podem ser enquadrados como matéria-prima para a obtenção de leite do tipo B (Barros, 1990).

Os valores de UFC/ml de leite verificados neste trabalho, à exceção dos observados no Tratamento IV, estão situados dentro dos intervalos citados por Mulay & Pal (1983). Estes autores relatam que na Índia foram encontrados valores de  $75 \times 10^4$  a  $255 \times 10^4$  UFC/ml para o leite "in natura" de búfalas, enquanto que para clarificado variaram de  $68 \times 10^4$  a  $352 \times 10^4$  UFC/ml. Esta grande variação foi constatada, também, por Hofi et al. (1969), no Egito, que observaram valores de  $10^3$  a  $10^8$  UFC/ml no inverno e de  $10^5$  a  $10^8$  UFC/ml, no verão, ao efetuarem a contagem de microorganismos presentes no leite de búfalas.

No Brasil, no Estado de Minas Gerais, Froeder et al. (1985) obtiveram contagens de  $3 \times 10^4$  e  $1,5 \times 10^5$  UFC/ml em amostras de leite de vacas bovinas, utilizando material coletado de baldes e de latões, respectivamente, logo após a ordenha. A contagem em amostra do material coletado nos baldes, citada por esses autores, corresponde a um valor pouco superior ao observado neste trabalho, com leite obtido no Tratamento IV. Por outro lado, a contagem em amostra proveniente de material contido nos latões, citada ainda pelos mesmos autores é mais elevada em relação à verificada no leite produzido nos Tratamentos II e III, e inferior à contagem constatada no leite obtido no Tratamento I.

No geral, o total de UFC/ml de leite obtido na contagem microbiana realizada no leite de cada tratamento, nesta pesquisa, é bastante promissor, uma vez que os valores observados não são altos quando comparados com os citados por Hofi et al. (1969), Mulay & Pal (1983) e Froeder et al. (1985).

Aos animais utilizados nesta pesquisa foram ministradas medidas profiláticas, boa alimentação e manejo adequado, além de terem sido ordenhados em locais apropriados e por pessoas com noções de higiene, mediante o uso de materiais adequados para recolher o leite

(Figs. 5, 7 e 12). Deve-se considerar, ainda, que os animais experimentais estavam na primeira e na segunda lactações, com baixa incidência de mastite, uma vez que de acordo com Lau et al. (1986), a mastite em bubalinos ocorre com mais frequência nas fêmeas após a quarta e a sexta lactações, o que confere maior carga bacteriana ao leite.

### **Tempo de Redução do Azul de Metileno (TRAM)**

Os dados referentes ao TRAM no leite de búfalas, nas épocas seca e chuvosa por tratamento experimental, são mostrados na Tabela 2.

De acordo com a avaliação dos dados, houve efeito significativo da atividade bacteriana no leite de búfalas oriundo dos tratamentos experimentais, bem como entre as épocas mais chuvosa e menos chuvosa (Fig. 14). Através das médias (Tabela 2) constatou-se maior atividade microbiana no Tratamento I (sem higienização dos animais), que suplantou estatisticamente os Tratamentos II (animais com úberes lavados em água corrente) e III (animais banhados em lagoa artificial), com tempos médios que foram semelhantes. No Tratamento IV (animais banhados em lagoa artificial e úberes lavados com solução bactericida), o TRAM indicou a menor atividade bacteriana, conforme, também, foi observado na Tabela 1, onde este tratamento alcançou a menor contagem de UFC.

Dentro das normas da American... (1941) o leite dos Tratamentos I, II e III foi considerado como "Regular" e o do Tratamento IV como "Bom". Segundo a classificação citada por Bhalariao (1977), o leite do Tratamento I, foi considerado como "Bom" e o proveniente dos demais como "Muito Bom". De acordo com a legislação brasileira (Xavier, 1992) seria considerado como matéria-prima para os tipos B e A, na mesma ordem.

Na Índia, Thekdi & Hakhani (1973) observaram que o tempo de redução do azul de metileno variou de 12 a 34 minutos no leite cru, o que caracteriza a elevada carga bacteriológica. Essa situação foi devido à coleta efetuada em locais onde o leite permaneceu por longos períodos sob condições atmosféricas desfavoráveis e péssimos cuidados higiênicos, além do fato da ordenha ter sido feita utilizando utensílios mal lavados, diferentemente deste trabalho.

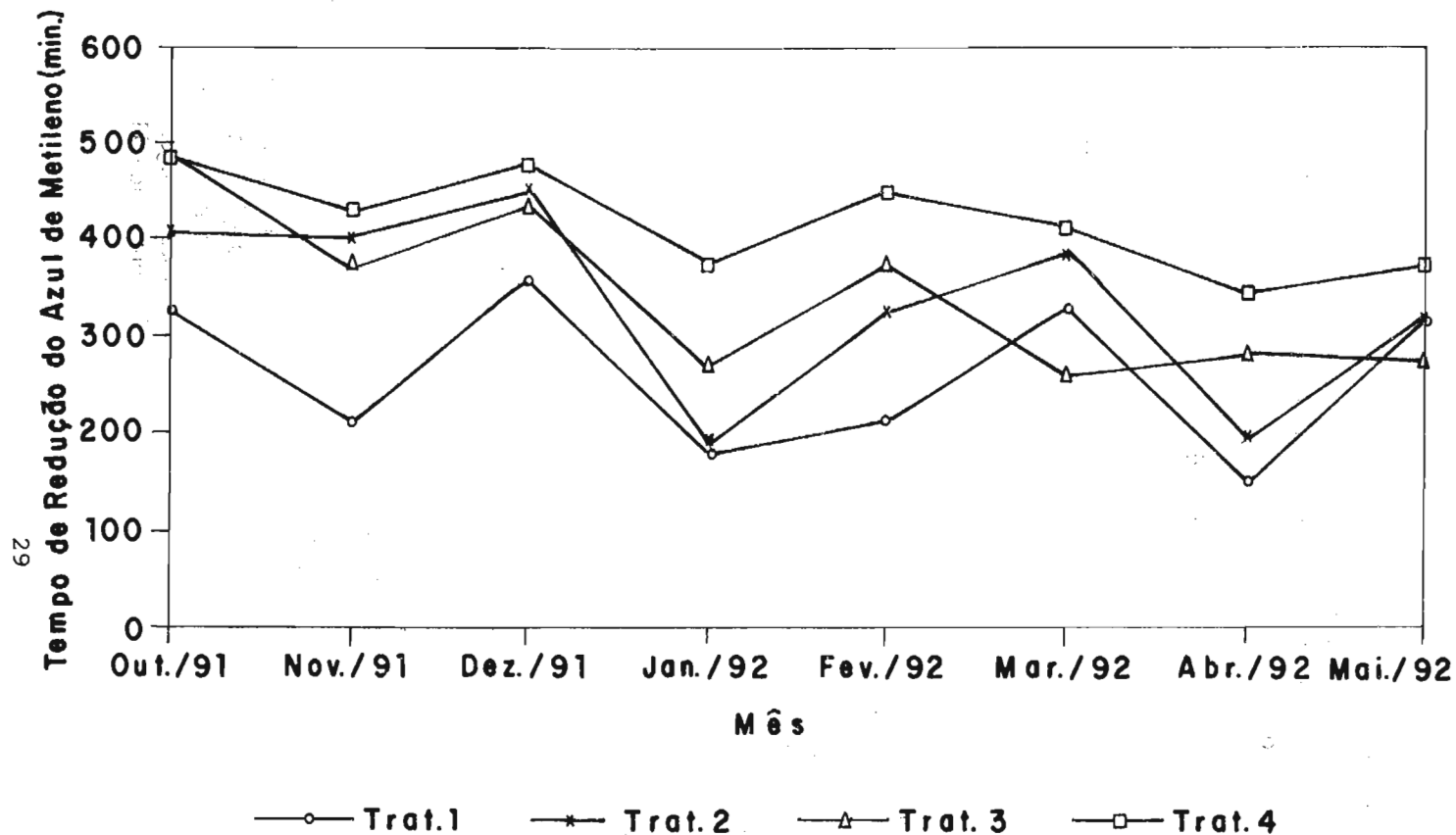


FIG. 14. Tempo de Redução do Azul de Metileno no leite de búfalas, por tratamento, no período de outubro/91 a maio/92.

TABELA 2. Dados de Tempo de Redução do Azul de Metileno (TRAM), em minutos, em leite de búfalas, nas épocas mais e menos chuvosa, em diferentes tratamentos experimentais, no período de 01.10.91 a 12.05.92, Belém, Pará.

Tratamento	Época do ano		Média
	Menos chuvosa	Mais chuvosa	
I - Animais sem higienização	290,36b	252,50b	268,09c
II - Animais com úberes lavados em água corrente	412,50a	303,75b	348,53b
III - Animais banhados em lagoa artificial	446,79a	292,50b	356,03b
IV - Animais banhados em lagoa artificial e úberes lavados com solução bactericida	468,21a	396,00a	425,74a
Média	404,46A	311,19B	—

Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 0,05.

Sekhon et al. (1984), na Índia, concluíram que no mês de dezembro, o TRAM foi de 470 minutos, com acidez de 0,12%. Entretanto, constataram que nos meses de agosto e setembro, devido às elevadas temperaturas e umidade do ar, o leite se deteriora facilmente. Ao analisarem esse produto foi detectado o TRAM variando entre 90 e 70 minutos, respectivamente. No mês de outubro, essa redução alcançou 170 minutos, suplantando o limite mínimo de aceitabilidade (150 minutos). A acidez expressa em ácido láctico nos meses de agosto e setembro foi de 0,21 e 0,20 %, na mesma ordem. Por outro lado, Hühn

et al. (1982), observaram valores de acidez em ácido láctico em torno de 0,176%, para o leite cru de búfalas Mediterrâneo, em Belém, PA.

No Egito, apenas, em poucas amostras de leite de búfalas (cerca de 1%) foi detectado um TRAM superior a 150 minutos, o que caracteriza a baixa qualidade do produto analisado (Hofí et al. 1969).

Na época menos chuvosa (junho a novembro) foi observado maior TRAM do que na mais chuvosa (dezembro a maio), cujos valores foram, respectivamente, 404,46 e 311,19 minutos. Essa maior atividade microbiana no inverno deve-se às modificações no ambiente, principalmente, nas condições climáticas, o que também é comprovado pelos valores citados na Tabela 1. As Figs. 15, 16, e 17 ilustram os efeitos das condições climáticas no tempo de atividade microbiana. Aumentos na umidade relativa do ar, na precipitação pluviométrica e na temperatura do ar provocaram aumentos na contagem total de bactérias, e, conseqüentemente, na elevação da atividade microbiana e diminuição do TRAM.

Segundo a classificação da American... (1941), o produto foi considerado como "Bom" e "Regular", nas épocas menos chuvosa e mais chuvosa, respectivamente, enquanto que para Bhalerao (1977) e conforme a legislação brasileira (Xavier, 1992) foi classificado como "Muito Bom", enquadrando-se em leite do tipo A, nessas duas épocas do ano.

Com base nas médias dos tratamentos experimentais na época menos chuvosa do ano (junho a novembro) constata-se que a maior atividade microbiana ocorreu no leite obtido no Tratamento I, devido à ação de sujidades que o animal carrega das poças existentes nas pastagens (Fig. 13), cujo TRAM foi de 290,36 minutos, enquanto os outros valores foram semelhantes entre si, com tempos de redução de 412,50, 446,79 e 468,21 minutos, respectivamente, nos Tratamentos II, III e IV.

Conforme a classificação da American... (1941), na época menos chuvosa do ano (junho a novembro) o leite produzido no Tratamento I foi classificado como "Regular" e "Bom" para o dos demais tratamentos (Tabela 2). Segundo Bhalerao (1977) o produto foi considerado "Bom" no Tratamento I e "Muito Bom" no II, III e IV, enquanto

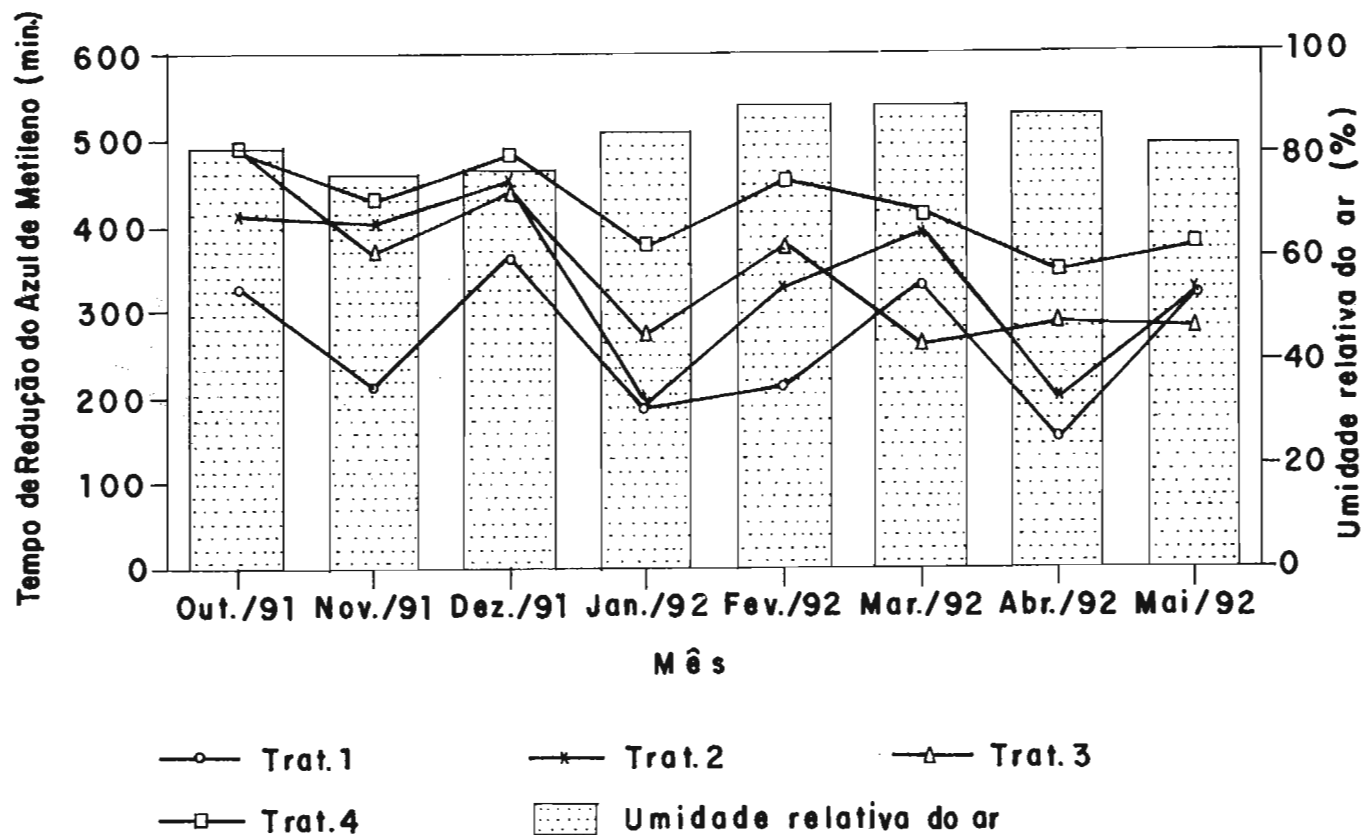


FIG. 15. Comparação entre a umidade relativa do ar e o Tempo de Redução do Azul de Metileno, no período de outubro/91 a maio/92.



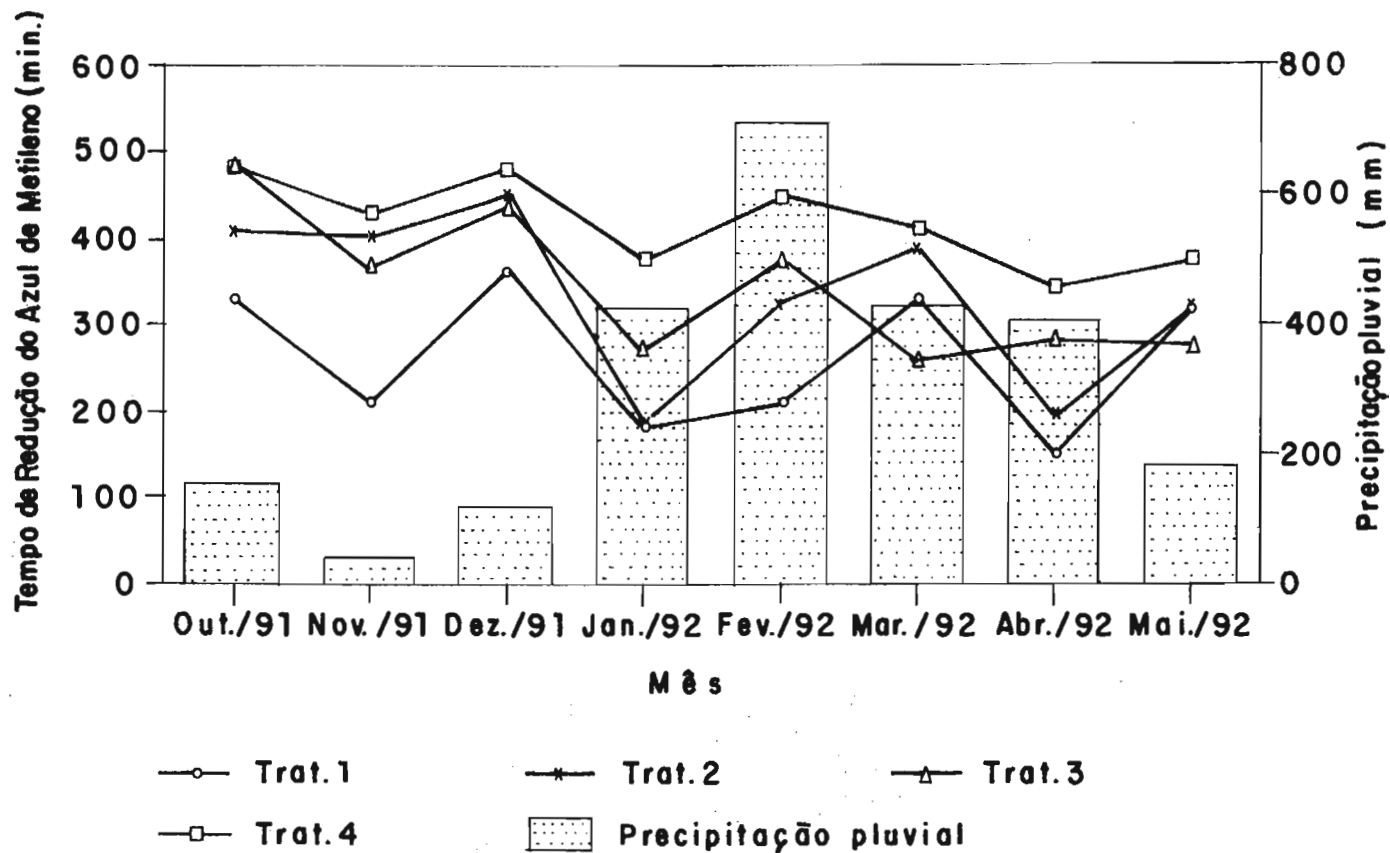


FIG. 16. Comparação entre a precipitação pluvial e o Tempo de Redução do Azul de Metileno, no período de outubro/91 a maio/92.

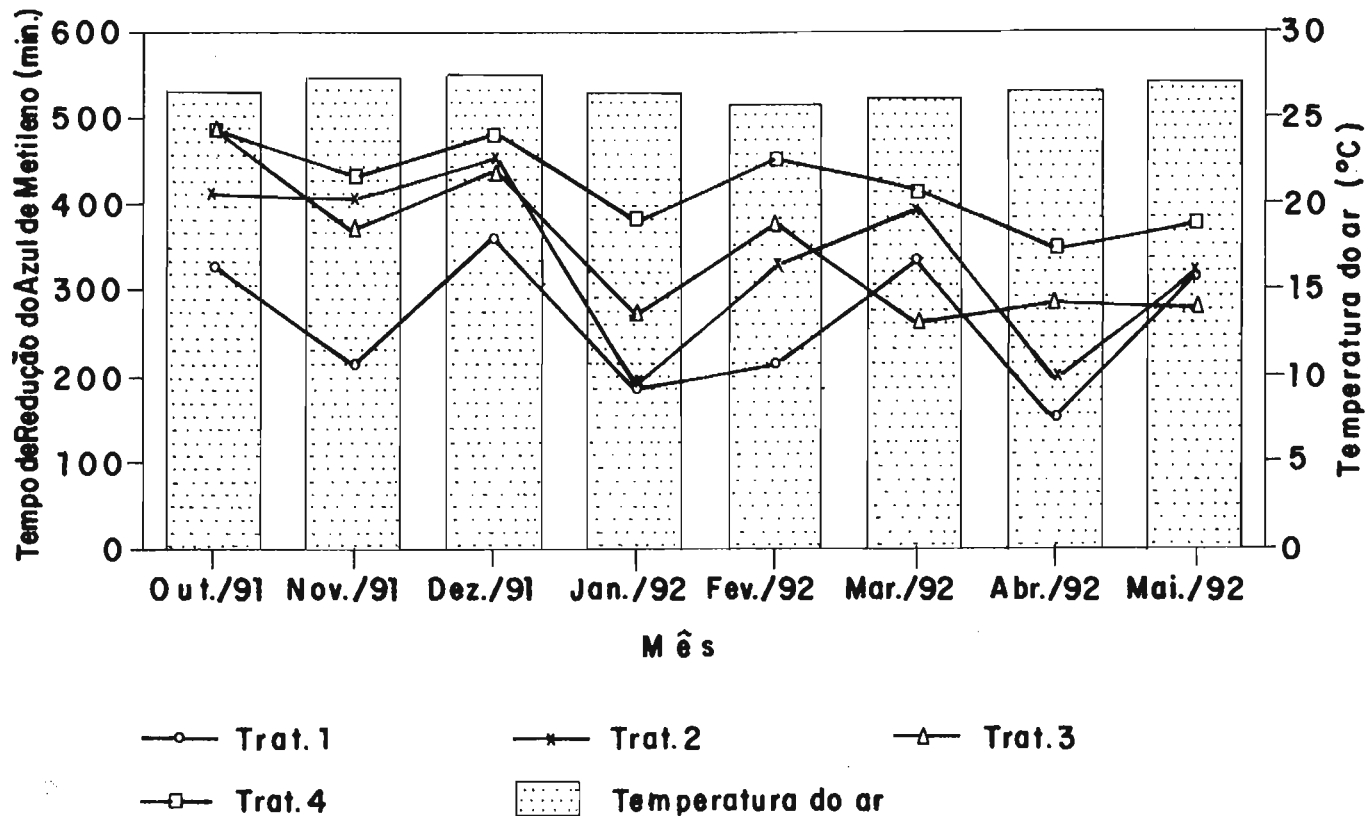


FIG. 17. Comparação entre a temperatura do ar e o Tempo de Redução do Azul de Metileno, no período de outubro/91 a maio/92.

que em termos da legislação brasileira (Xavier, 1992) foi classificado como matéria-prima para o leite do tipo B no Tratamento I e do tipo A nos demais tratamentos.

Na época mais chuvosa do ano (dezembro a maio), os três primeiros tratamentos mostraram atividades microbianas semelhantes entre si, cujas médias foram 252,50, 303,75 e 292,50 minutos, os quais apresentaram carga bacteriana maior do que o leite proveniente do Tratamento IV, onde o tempo médio atingiu 396,00 minutos.

Nessa época do ano, esses produtos foram considerados "Regular", nos três primeiros tratamentos, e "Bom" no IV, de acordo com a classificação da American..., (1941), e como "Bom", nos Tratamentos I e III e "Muito Bom" nos demais, segundo Bhalariao (1977). Para a legislação brasileira (Xavier, 1992) está enquadrado como matéria-prima para os tipos B e A, na mesma ordem.

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos conclui-se que:

- As condições climáticas têm grande influência na carga bacteriana do leite de búfalas, ocorrendo na época mais chuvosa a maior incidência de microorganismos.

- Há necessidade da higienização adequada dos úberes antes da ordenha, a fim de possibilitar a obtenção de um produto de melhor qualidade, principalmente, no período de maior precipitação pluvial, quando as búfalas, devido a hábitos inerentes à espécie, sofrem contaminações nos lamaçais formados na pastagem, ou em ambientes de banho que contenham detritos indesejáveis.

- O uso de solução bactericida na lavagem dos úberes, após o banho das búfalas, é o procedimento mais eficiente entre os comparados para a obtenção de leite de boa qualidade.

- De acordo com as classificações consideradas, o leite proveniente de vacas bubalinas criadas em pastagem de terra firme, empregando-se tratamentos higiênicos adequados, entre os quais, o uso de solução bactericida na lavagem e limpeza de úberes, é considerado como "Bom", "Muito Bom" e como matéria-prima para o leite tipo A.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of dairy products**. 8. ed. New York, 1941.
- BARROS, V.R.M. Especialista diz por que o leite B é melhor que o C. **Revista do Leite B**, São Paulo, v. 4, n. 43, p. 18-22, 1990.
- BASTOS, T.X. O estado atual dos conhecimentos das condições climáticas da Amazônia brasileira. In: INSTITUTO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO NORTE (Belém, PA) **Zoneamento agrícola da Amazônia: primeira aproximação**. Belém, 1972. p. 68-122. (IPEAN. Boletim Técnico, 54).
- BEHMER, M.L.A. **Laticínios, leite, manteiga, caseína e instalações**. São Paulo: Melhoramento, 1950. 312p.
- BEHMER, M.L.A. **Tecnologia do leite: leite, queijo, manteiga, caseína, sorvetes e instalações**. São Paulo: Nobel, 1975. 302p.
- BHALERAO, V.R. **Handbook of animal husbandry**. New Delhi: ICAR, 1977.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Divisão de Inspeção de Leite e Derivados. **Normas higiênico-sanitárias e tecnológicas para leite e produtos lácteos**. Brasília, 1978. 90p.
- COVARRUBIAS, M.P.; HAVERBECK, J. Variações na qualidade do leite cru fase estábulo-indústria leiteira. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 33, n. 195, p. 3-12, 1978.
- DENNIS, R.A. Payments for milk in a quality basis. **Dairy Science Abstracts**, v. 32, n. 4, p. 702, 1970.
- FROEDER, E.; PINHEIRO, A.J.R.; BRANDÃO, S.C.C. Variação de qualidade microbiológica do leite tipo "C" da região de Viçosa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 40, n. 241, p. 55-68, 1985.
- GOMES, M.F. O médico-veterinário e a saúde pública – O Serviço de Inspeção Federal-SIF. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 30, n. 184, p. 21-23, 1975.

- HODGSON, R.E.; REED, O.E. **Manual de laticínios para a América tropical**. Washington, D.C.: USDA, 1961. 327p.
- HOFI, A.A.; RAMADAM, F.M.; FODA, E.A. Studies on marked raw buffaloes milk. II. Bacteriological quality with special reference to dye tests. **Dairy Science Abstracts**, v. 31, n. 5, p. 263, 1969.
- HÜHN, S.; HAJDENWURCEL, J.R.; MORAES, J.M.; VARGAS, O.L. Qualidade microbiológica do leite cru obtido por meio de ordenha manual e mecânica e ao chegar à plataforma. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 35, n. 209, p. 3-8, 1980.
- HÜHN, S.; LOURENÇO JUNIOR, J.de B.; MOURA CARVALHO, L.O.D. de; NASCIMENTO, C.N.B. do; VIEIRA, L.C. Aproveitamento do leite de búfala em produtos derivados. In: SIMPÓSIO DO TRÓPICO ÚMIDO, I., 1984, Belém. **Anais...** Belém: EMBRAPA – CPATU, 1984. v.5. p. 265-269 (EMBRAPA– CPATU. Documentos, 36).
- HÜHN, S.; GUIMARÃES, M.C.F.; NASCIMENTO, C.N.B. do; MOURA CARVALHO, L.O.D. de; MOREIRA, E.; LOURENÇO JUNIOR, J. de B. **Estudo comparativo da composição química do leite de zebuínos e bubalínos**. Belém: EMBRAPA – CPATU, 1982. 15p. (EMBRAPA – CPATU. Boletim de Pesquisa, 36).
- HÜHN, S.; LOURENÇO JUNIOR, J. de B.; MOURA CARVALHO, L.O.D. de; NASCIMENTO, C.N.B. do; VIEIRA, L.C. **Características, peculiaridades e tecnologia do leite de búfalas**. Belém: EMBRAPA - CPATU, 1991. 51 p. (EMBRAPA - CPATU. Documentos, 57).
- HÜHN, S.; LOURENÇO JUNIOR, J. de B.; MOURA CARVALHO, L.O.D. de; NASCIMENTO, C.N.B. do; VIEIRA, L.C. **Iogurte do leite de búfala com sabores de frutas da Amazônia**. Belém: EMBRAPA – CPATU, 1981. 13 p. (EMBRAPA - CPATU. Circular Técnica, 23).
- INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO-SOCIAL DO PARÁ (Belém, PA) **Laticínios em Marajó**. Belém, 1971. 55 p.(IDESP. Estudos Paraenses, 36).

- LÁU, H.D.; SING, N.P.; HESS, S.J. Comparação de testes indiretos no diagnóstico de mastite subclínico em búfalas. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1986. 13p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa, 77).
- MORAES, J.M.; HANDERWURCEL, J.R. Importância das contaminações no estufamento tardio do queijo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 8, n. 88, p. 23-26, 1982.
- MULAY, C.A.; PAL, D. Influence of clarification on the keeping quality of buffalo milk. **Indian Journal Dairy Science**, v. 36, n. 4, p. 344-348, 1983.
- PETERSEM, O.; JORGENSEN, J. Developments in the quality of milk influenced by payment for milk. **Dairy Science Abstracts**, v.32, n. 4731, p. 702, 1970.
- ROCHA, J.P. Trabalhos de inspeção em laticínios. **Boletim do Leite**, v. 52, n. 619, p. 1-6, 1980.
- SANTIAGO, A.A. A criação de búfalos. V. A produção de leite. **Revista do Criador**, v.26, n. 314, p. 6, 1956.
- SANTOS, E.C. Acidez do leite e seu controle na fazenda. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 7, n. 77, p. 26-29, 1981.
- SEKHON, B.S.; GILL, R.S.; BHULLAR, M.S. Effect of quality of milk on the mortality and growth rate of weaned buffalo calves. **Indian Journal Dairy Science**. v. 37, n. 4, p. 373-377. 1984.
- THEKDI, R.J.; LAKHANI, A.G. Bacteriological quality of market milk in Poona. **Dairy Science Abstracts**, v. 35, n. 5251, p. 540, 1973.
- VIEIRA, S.D.A. Determinação da qualidade do leite cru. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 30, n. 182, p. 13-19, 1975.
- XAVIER, A.J. Qualidade. O que acontece com o leite fora do padrão. **Revista do Leite**, São Paulo, v. 6, n. 67, p. 6-11, 1992.

A AMPLA PARTICIPACIÇÃO DE TODOS OS  
FUNCIONÁRIOS NOS PROCESSOS, AÇÕES E  
SOLUÇÕES PERTINENTES A UMA INSTITUIÇÃO  
É QUALIDADE TOTAL.

